Concept 18-7

เนื้อหา: DNA ในโพรคาริโอตและยูคาริโอต
มิวเทชัน
พันธุวิศวกรรม

---

1. DNA ในโพรคาริโอต (bac, สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน)
   - 1.1. ลอยอยู่ใน cytoplasm ไม่มีเยื่อหุ้ม nucleus ล้อมรอบ
   - 1.2. chromosal DNA $\Longrightarrow$ DNA ของ bac. เป็นเกลียวคู่ (double strand) ไม่มีปลายเปิด มีลักษณะเป็นวง (circular DNA) มีเบส 4.5 megabase ($\times 10^6$ คู่เบส) DNA ของ bac รวมอยู่กับโปรตีนหลายชนิด แต่ไม่มีโปรตีน histone กลายเป็น chromosome ซึ่งเป็นวงแหวน 1 chromosome
   - 1.3. plasmid DNA $\Longrightarrow$ DNA ขนาดเล็ก ของผู้อาศัย มีเบส 100 kilobase มักมี gene ที่ต้านยาปฏิชีวนะและ gene ผลิตสารพิษ (toxin)
   - 1.4. ใน bac จะมี chromosome 1 อัน แต่มี plasmid ได้หลายอัน
2. DNA ในยูคาริโอต (โพรทิสต์ พืช สัตว์ ทั่ว ๆ ไป)
   - 2.1. มีเยื่อมหุ้มนิวเคลียส ล้อมรอบ DNA
   - 2.2. DNA มีคู่เบสมาก เช่น เซลล์ haploid ของคน มีเบส 3000 megabase
   - 2.3. DNA ของพวกยูคาริโอต มีปริมาณมากกว่า DNA ของโพรคาริโอตเป็นอันมาก
   - 2.4. โครโมโซมประกอบด้วย DNA อยู่รวมกับโปรตีน histone และ โปรตีนชนิดอื่น ๆ เรียกว่า chromatin
   - 2.5. มีจำนวนโครโมโซมมากกว่า 1 อัน
   - 2.6. โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบ ส่วนใหญ่เป็น histone โดยที่ DNA จะพันรอบ ๆ histone
   - 2.7. เมื่อจะแบ่ง DNA หรือ เมื่อ DNA จะสังเคราะห์ RNA DNA ต้องหลุดจากโปรตีนชั่วคราวจึงจะอยู่ในสภาพที่ทำงานได้
   - 2.8. nucleosome (11 nm) $\Longrightarrow$ DNA + โปรตีน histone $\Longrightarrow$ เป็นแผ่นกลม โดยเกลียวคู่ของ DNA ขนาด 2nm พันอยู่รอบ ๆ โดยพันเวียนซ้าย
   - 2.9. nucleosome แต่ละอัน มี DNA เกลียวคู่ เป็นตัวเชื่อม ดูคล้ายสร้อยลูกปัด
   - 2.10. nucleosome ⟵พันเกลียว⟶ solenoid (30 nm) ⟵พันเกลียว⟶ filament (300 nm) $\longrightarrow$ supercoil filament (700 nm) $\longrightarrow$ metaphase chromosome (1400 nm)
   - 2.11. โครโมโซมในเซลล์ของยูคาริโอตแต่ละอัน ประกอบด้วย DNA ที่เป็นสายยาว 1 โมเลกุล
   - 2.12. โครโมโซมแต่ละอันในเซลล์มนุษย์ที่อยู่ในสภาพยืดออกเต็มที่ จะยาวประมาณ 5 cm ขณะที่นิวเคลียสมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตร และมีโครโมโซมอยู่ถึง 46 แท่ง ดังนั้น DNA จึงต้องมีการขดพันกันหลายขั้น จึงสามารถบรรจุสายโครมาทินของโครโมโซมทั้งหมดลงในขนาดของนิวเคลียสเท่านี้ได้
3. mutation $\Longrightarrow$ การเปลี่ยนแปลงของสิ่งมีชีวิตอย่างรวดเร็ว โดยมักจะเปลี่ยนแปลงในระดับยีน ทำให้สิ่งมีชีวิตมีลักษณะแตกต่างจากกลุ่มปกติ
4. ระดับการเกิด mutation

โดย ประพันธ์ สุขสมปอง

CONCEPT 18-7

gene mutation point mutation	chromosomal mutation				
	รูปร่างโครงสร้างภายใน			จำนวน	
เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของเบส (A,T,C,G) โดยอาจเปลี่ยนที่ ชนิด โครงสร้าง หรือ ลำดับ ของเบส	ขาดหายไป (deletion) ทำให้ยีนหายไปด้วย	เพิ่มขึ้นมา (duplication)	เปลี่ยนสลับที่ (translocation)	aneuploidy $\Longrightarrow$ $2n \pm 1,2$	euploidy $\Longrightarrow$ $2n \pm n,2n$
โรคโลหิตจางชนิดเม็ดเลือดแดงมีรูปร่างเหมือนเคียวเกี่ยวข้าว (sickle cell anemia) เกิดจากกรดอะมิโนลำดับที่ 6 ของ polypeptide สาย β ของ hemoglobin เปลี่ยนจาก glutamic acid ไปเป็น valine เนื่องจากรหัสพันธุกรรมใน DNA เปลี่ยนจาก CTC ไปเป็น CAC (พบโดย V.M.Ingram) ถ่ายทอดด้วยยีนด้อย	Cri-du-chat / Cat-cry syndrome (คู่ 5 แขนสั้นส่วนหนึ่งหายไป)			• Down's syndrome (trisomic 21) • Klinefelter's syndrome (XXY) • Turner's syndrome (X)	ส่วนใหญ่เกือบทั้งหมดพบในพืช ซึ่งช่วยเพิ่มผลผลิต และเป็นกลไกสำคัญทำให้เกิดวิวัฒนาการของพืช ในสัตว์ $\longrightarrow$ เป็นหมัน

1. mutagen (สิ่งก่อกลายพันธุ์) $\Longrightarrow$ ตัวกระตุ้นหรือตัวชักนำให้เกิด mutation
   - 1.1. รังสี (radiation) $\Longrightarrow$ แกมมา , X , ultraviolet
   - 1.2. สารเคมี (chemical substance) $\Longrightarrow$ colchicine ทำให้จำนวนชุดโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็น tetraploid (4n) เนื่องจากไปทำลาย mitotic spindle ในระยะ metaphase , aflatoxins จากเชื้อราบางชนิด , กรดไนตรัส , สีอะคริดิน
   - 1.3. virus $\Longrightarrow$ ทำให้เกิดเนื้องอกและมะเร็ง
   - mutagen หลายอย่างเป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogen)
2. พันธุวิศวกรรม (genetic engineering) $\Longrightarrow$ กระบวนการตัดต่อยีน จากการสังเคราะห์ขึ้น หรือ จากสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ที่มียีนที่ต้องการ เข้าด้วยกัน แล้วนำไปใส่ในสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่ง (host) เพื่อให้ผลิตสารโปรตีนตามที่ต้องการ
3. พันธุวิศวกรรม เป็นกระบวนการที่ทำให้เกิดการแปรผันของยีนได้รวดเร็ว และตรงตามจุดประสงค์ รวมทั้งยังผสมยีนข้ามสายพันธุ์ได้ เช่น คนกับแบคทีเรีย
4. กระบวนการพันธุวิศวกรรมโดยการตัดต่อ DNA
   - 4.1. การสร้าง DNA สายผสม (recombinant DNA)
     - 4.1.1. เตรียม DNA ที่ต้องการ โดยการสังเคราะห์ หรือ ตัด DNA จากแหล่งที่ต้องการ โดยใช้ เอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) (พบครั้งแรกโดย Hamilton Smith)
       - Escherichia coli KY13 $\longrightarrow$ EcoRI $\Longrightarrow$ A/G
       - Hemophilus influenzae Rd $\longrightarrow$ Hind III $\Longrightarrow$ AA
     - 4.1.2. เตรียมพาหะ DNA (DNA vector) เป็น DNA ที่จะนำพา DNA ที่ต้องการเข้าสู่ host โดยอาจใช้เป็น plasmid, phage (bacteriophage), cosmid
     - 4.1.3. นำ DNA ที่ต้องการ เชื่อมต่อกับ DNA vector โดยใช้ เอนไซม์เชื่อมต่อ DNA ligase
       - S. Cohen และ H. boyer ประสบความสำเร็จในการเชื่อม DNA ท่อนสั้น ๆ ซึ่งเป็น DNA ของสิ่งมีชีวิตต่างกัน แต่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกัน เข้าเป็น DNA โมเลกุลเดียวกัน ทำให้เกิด DNA ลูกผสม (recombinant DNA) $\Longrightarrow$ จุดกำเนิดพันธุวิศวกรรม

4.2. การนำ DNA สายผสมเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน โดยวิธีต่าง ๆ กัน เช่น

4.2.1. transformation

4.2.2. transfection

4.2.3. transduction $\Longrightarrow$ มีประสิทธิภาพที่สุด

4.3. การเลือกเฟ้นหา host ที่ได้รับ DNA สายผสมและมีการสร้างสารโปรตีนที่ต้องการ เพื่อเพิ่มจำนวน host ให้มากขึ้น

5. การนำ พันธุวิศวกรรมไปประยุกต์ใช้

5.1. เพิ่มผลผลิตโปรตีนที่สำคัญและหายาก $\Longrightarrow$ GH, insulin, interferon, วัคซีนแก้โรคตับอักเสบชนิด บี (hepatitis B vaccine), วัคซีนโรคเท้าเปื่อยในสัตว์, เอนไซม์ต่าง ๆ

5.2. ปรับปรุงพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมบางประเภท $\Longrightarrow$ การผลิตยาปฏิชีวนะ, การหมัก, การกำจัดศัตรูพืชและสัตว์

5.3. ปรับปรุงพันธุ์พืชและสัตว์ให้ได้ลักษณะที่ต้องการ หรือ ให้มีผลผลิตที่ดียิ่งขึ้น $\Longrightarrow$ การตรึง N_2 จากอากาศ, การเพิ่มไลซีนในข้าว, การต้านทานแมลง, การทนดินเค็ม

5.4. การตรวจและแก้ไขความบกพร่องทางพันธุกรรมของมนุษย์ พืช และ สัตว์ ด้วยวิธีแม่นยำ และ รวดเร็วยิ่งขึ้น

6.